



(19) BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

(12) Offenlegungsschrift
(10) DE 43 38 732 A 1

(51) Int. Cl. 6:
G 01 N 27/327

- (21) Aktenzeichen: P 43 38 732.2
(22) Anmeldetag: 12. 11. 93
(43) Offenlegungstag: 18. 5. 95

(71) Anmelder:
Dandekar, Thomas, Dr., 69117 Heidelberg, DE

(72) Erfinder:
gleich Anmelder

- (54) Biosensor (neuer Bauart)
(57) Die Erfindung betrifft Biosensoren, das sind Meßgeräte, die biologische Stoffkonzentrationen und Signale in elektronische Signale umwandeln. Ein neues Herstellungsverfahren kombiniert Molecular Imprinting mit der Herstellung organischer Halbleiter und erzielt damit Biosensoren, die gleichzeitig hochspezifische biologische Nachweiseigenschaften und gute elektronische Signalmodulationseigenschaften in einer kombinierten Nachweisschicht verbinden. Eine Variante lagert dauerhaft spezifisch interagierende Moleküle während der Herstellung des organischen Halbleiters ein.

DE 43 38 732 A 1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen
BUNDESDRUCKEREI 03. 95 508 020/172

DE 43 38 732 A 1

Beschreibung

Technisches Gebiet

- 5 Die Erfindung betrifft Biosensoren, daß heißt Meßgeräte, in denen biologische Moleküle, z. B. Enzyme, andere biologische Substanzen dadurch messen, daß sie in Abhängigkeit von der zu messenden Substanz ein Signal erzeugen, das anschließend (z. B. über eine Zwischenschicht) die elektrischen Eigenschaften in einer elektrischen Signale eines Halbleiterbauelements beeinflussenden Schicht, im Folgenden als elektronische Schicht eines Halbleiterbauelements bezeichnet, verändert. So versucht ein Biosensor, ein biologisch-chemisches Signal, beispielsweise hinsichtlich der Konzentration biochemischer Substanzen, in ein elektronisches umzuwandeln und die Konzentrationen damit zu messen.

Stand der Technik mit Fundstellen

- 15 Biosensoren der genannten Art sind aus der DE-OS 26 10 530 bekannt. Des weiteren ist aus der US-PS 3 831 432 ein Feldeffekttransistor zum Nachweis von in der Atmosphäre enthaltenen Komponenten bekannt, in dessen nicht mit einer Gateelektrode versehenem Gateoxid organische Verbindungen durch chemische Bindung direkt eingelagert sind. Darüber hinaus ist die eigene Patentschrift DE 35 13 168 C2 bekannt, in der ein Biosensor patentiert wurde, der dadurch gekennzeichnet ist, daß die organisch-biologische Schichtkomponente eine Nukleinbase oder eine zum Aufbau von Makromolekülen geeignete Aminosäure ist und daß die organisch-biologische Schichtkomponente direkt in die elektronische Schicht eingelagert oder durch kovalente Bindung direkt mit ihr verbunden ist. Ein solcher Biosensor weist damit in einer Schicht sowohl das biochemische Signal nach und wandelt es in ein elektronisches Signal um. Weitere wichtige Ausführungen von Biosensoren haben zwei getrennte Schichten, eine biologische Schicht, um das biochemische Signal aufzufangen und eine getrennte elektrische Schicht, in der nach weiteren Reaktionen das elektronische Ausgabesignal entsteht. So können z. B. Piezokristalle als elektronischer Teil im Verbund mit einem sandwich assay aus zwei hochaffinen DNA bindenden Proteinen zum Nachweis von Picogramm Mengen DNA benutzt werden (Kung et al., 1990). Biosensoren haben zahlreiche, insbesondere medizinische Anwendungen (Übersicht in Roe, 1992). Sie können zum Nachweis zahlreicher labormedizinisch wichtiger Stoffe, insbesondere etwa Glukose durch die Kombination immobilisierten Enzym/Nachweiselektrode oder optoelektronischen Endnachweis, etwa über Polyanilin (Parente et al., 1992) genutzt werden, ebenso werden Kombinationen aus Antikörper und Nachweiselektrode ständig weiter entwickelt (Dempsey et al., 1993). Eine typische Anwendung für die biotechnologische Prozeßkontrolle ist die Kombination Enzym und Thermistor (Rank et al., 1992). Auch ganze Zellen können für die Detektion der biologischen Schicht eingesetzt werden, etwa um L-Prolin nachzuweisen (Simonian et al., 1992). Epitope und Bindungskinetik können durch die real time biospecific interaction analysis über Plasmon Resonanz besser beschrieben werden (Malmqvist, 1993).

Kritik des Standes der Technik

- 40 Biosensoren haben insbesondere mit dem Signalverlust und der Rauschverstärkung bei der Weitergabe des biologischen Signals an die elektronische Schicht zu kämpfen. Bei zweischichtigen Biosensoren besteht die Möglichkeit sich bei der elektronischen Schicht auf die Herstellung möglichst guter elektronischer Eigenschaften zu konzentrieren. Verschiedene Dotierungsverfahren (konventionelle, z. B. Dziewior, 1980, aber auch neuere wie z. B. Yamazaki und Kurokawa) um verbesserte Halbleitereigenschaften zu erhalten, sind bekannt. Bei der Dotierung wird ein Fremdstoff, der entweder zusätzliche negative Ladungsträger erzeugt, oder durch Ladungsträgerverarmung Fehlstellen anregt, die wie positive Ladungsträger wirken, in den fertigen Halbleiter eingebracht. Ebenso kann die biologische Schicht, beispielsweise durch Sandwich Assays, auf ihre Aufgabe angepaßt werden. Dennoch entsteht durch diese Spezialisierung der beiden Schichten ein gravierender Nachteil von zweischichtigen Biosensoren, nämlich die Weitergabe des biologischen Signals an die elektronische Schicht. Da zudem meistens die biologische Schicht über eine spezielle Kontaktsschicht an die elektronische Schicht gekoppelt wird, wird das Problem noch verschärft, da der Weg von der biochemischen Stoffkonzentration zu dem elektronischen Meßsignal nochmals länger und störanfälliger wird. Eine alternative Möglichkeit stellen einschichtige Biosensoren da, in denen in einer Schicht das biologische Signal in ein elektronisches umgewandelt wird. Eine mögliche Ausführung von einschichtigen Biosensoren ist die Verwendung eines organischen Halbleiters, in den dann Nukleotide oder andere organische Monomere eingebracht worden sind. Aber bei einschichtigen Biosensoren stellt sich insbesondere das Problem, durch einen geeigneten Arbeitsgang in einer Schicht gleichzeitig elektronische und biologische Signalverarbeitungseigenschaften zu erzeugen. Ein übliches Verfahren wäre etwa die Joddotierung des organischen Halbleiters mit anschließendem Einbringen der biologischen Moleküle. Dabei tritt sowohl die Schwierigkeit einer ausreichenden Dotierung wie einer Schädigung der Spezifität des biologischen Rezeptormoleküles auf.

Es läßt sich zudem generell feststellen, daß die Entwicklung geeigneter biologischer Rezeptormoleküle für Biosensoren recht schwierig ist. Beispielsweise sind Antikörper große, nicht sehr haltbare Biomoleküle, die dadurch bei ein- und zweischichtigen Biosensoren die Lebensdauer des Instrumentes begrenzen, bei einschichtigen Biosensoren aber beim Einbringen in die elektronische Schicht sehr leicht denaturiert werden und Schaden nehmen können. Dadurch liegt die bereits bekannte Lösung nahe, die Herstellung eines einschichtigen Biosensors lediglich durch das anschließende Einbringen kleiner organischer Monomere erreichen zu können, an die dann größere Moleküle mit hoher Spezifität verankert werden können.

Aufgabe

Die Erfindung liegt deshalb die Aufgabe zu Grunde, eine neue Herstellung eines Biosensors zu erreichen und gleichzeitig eine möglichst hohe Empfindlichkeit und einfache Herstellung eines Biosensors zu erzielen.

Lösung

5

Diese Aufgabe wird erfundungsgemäß dadurch gelöst, daß zwei bekannte Verfahren, die in ihrer bekannten Anwendung gegensätzliche Ziele verfolgen, nun verbunden werden, und zwar nicht um zwei verschiedene, getrennte Schichten, eine mit biologischen und eine mit elektronischen Eigenschaften, zu erhalten sondern, um eine einzige Schicht zu bearbeiten, die dann sowohl hochspezifische biologische Rezeptoreigenschaften besitzt wie auch elektronische Halbleitereigenschaften hat. Die kürzlich erfolgte einfache Herstellung von Leuchtdioden durch Verwendung löslicher leitender Polymere unterstreicht das hohe Entwicklungspotential dieser Stoffgruppe (Gustafsson et al., 1992).

10

Das erste Verfahren ist das sogenannte Molecular Imprinting (Vlatakis et al., 1993). Hierbei werden in einem Polymer (meist ein organisches Polymer, z. B. Methacrylsäure, es sind aber auch andere Polymere denkbar) durch Einbringen eines Print-Moleküls, z. B. Theophyllin, spezifische Rezeptorstellen gesetzt. Um diese Printmoleküle polymerisiert dann das Polymer nach dem ein Initiator (z. B. 2,2'-azobis(2-methylpropionitrile), AIBN) die Polymerisationsreaktion gestartet hat. Schließlich wird das Printmolekül durch Lösungsmittlextraktion wieder entfernt.

15

Das zweite Verfahren ist die Herstellung organischer Halbleiter. Hierbei werden z. B. Polyacetylenfilme nach einer modifizierten Zeigler-Natta Katalysetechnik hergestellt und anschließend wird eine Joddotierung durch einstündige Immersion in gesättigten Jod/Tetrachlorkohlenstoff Lösungen erreicht (Basescu et al., 1987).

20

Die neue Lösung verbindet diese unterschiedlichen Arbeitsgänge und Problemlösungen zu einem neuen Herstellungsverfahren für Biosensoren mit kombinierter Nachweisschicht. Üblicherweise wird vor der Dotierung organischer Halbleiter eine Polymerisation der Monomere, die diesen Halbleiter herstellen sollen, durchgeführt.

25

Erfundungsgemäß (Hauptanspruch zwei) wird dagegen diese Polymerisierung in zusätzlicher Gegenwart von geeigneten kleinen (meist organischen) Molekülen durchgeführt. Dadurch kann eine Verbesserung für die Herstellung der biologischen Schicht erzielt werden: Die eingelagerten Moleküle können entweder direkt (Freisetzung weiterer positiver oder negativer Ladungsträger) die elektronischen Eigenschaften der Schicht verbessern oder indirekt günstig in dieser Richtung wirken, sie können aber auch indirekt die Integration der biologischen Rezeptormoleküle in dem einschichtigen Sensor verbessern oder sie können sogar die biologischen Rezeptormoleküle (z. B. Nukleotide) selbst sein, denn eine einfache direkte und vor allen Dingen schonende Einbringung der biologischen Rezeptormoleküle wird dadurch erreicht, daß sie einfach schon bei der Polymerisation der Muttersubstanz vorhanden sind.

30

Die Spezifität für die biologische Schicht dieses Biosensors kann aber noch wesentlich besser (und vollkommen unabhängig von der gerade beschriebenen direkten, dauerhaften Einlagerung von Molekülen gemäß Hauptanspruch zwei) dadurch erzielt werden (gemäß Hauptanspruch eins), daß Printmoleküle für Molecular Imprinting vor der Polymerisation des (meist organischen) Polymers zugegeben werden. Die Printmoleküle werden dann nach der Polymerisation der Muttersubstanz wieder (s. o.) durch eine für das Printmolekül geeignete Lösungsmittlextraktion entfernt. Dadurch können mehrere Vorteile genutzt werden: Zum einen eine wesentlich höhere Spezifität, da die Printmoleküle im Polymer noch genauer, als das Monomere von biologischen Monomeren, wie das etwa Nukleotide oder Aminosäuren sind, zu einem recht spezifischen Rezeptor führen, gleichzeitig steht ein viel größeres Spektrum von verschiedenen Rezeptoren, die durch das Imprinting geschaffen werden können, zur Verfügung. Zum anderen verbleiben jetzt keine zusätzlichen, möglicherweise störenden Rezeptormoleküle in der halbleitenden organischen Muttersubstanz, sondern sie selber wird direkt mit spezifischen Rezeptorgruben ausgestattet. Das verkürzt darüber hinaus nochmals den Signalweg, da nach dem Herstellungsvorgang nur noch der Abdruck des Printmoleküls vorhanden ist, weder eine zusätzliche Schicht noch ein weiteres eingelagertes Molekül. Dadurch hat dieser organische Halbleiter gleichzeitig die biologischen Eigenschaften einer durch Molecular Imprinting behandelten Schicht: Spezifisch kann sich der Ligand anlagern. Interessanter Weise braucht jetzt aber diese mit Imprinting behandelte Trägersubstanz auch nicht mehr wie eine bloß biologische Schicht im kompetitiven Bindungsassay auf Anwesenheit des Liganden nachgemessen zu werden. Denn da das Imprinting nicht an einem einfachen organischen Polymer durchgeführt wurde, sondern dieses Polymer durch das andere Herstellungsverfahren so verändert wurde, daß es gleichzeitig elektronische Eigenschaften hat, ändern sich jetzt direkt die elektronischen Eigenschaften des organischen Halbleiters, wenn sich der Ligand anlagert. Auf diese Weise hat man eine problemlose, schnelle und schonende Herstellung einer kombinierten Nachweisschicht mit elektronischen und biologischen Signalumwandlungseigenschaften. Mit Hilfe des bereits bekannten Standes der Technik (s. o.) kann diese kombinierte Nachweisschicht dann insbesondere zur Herstellung eines einschichtigen Biosensors genutzt werden, der nicht nur billig ist, sondern noch dazu sehr rauscharm durch die eine Schicht und sehr haltbar, insbesondere in dem sonst so zerbrechlichen biologischen Anteil, der mit diesem neuen Herstellungsverfahren auf den biologischen, hochspezifischen Rezeptorabdruck reduziert ist. Darüber hinaus kann diese neue kombinierte Nachweisschicht selbstverständlich auch mit weiteren, bereits bekannten elektronischen (z. B. Feldeffekttransistor) und biologischen (z. B. verstärkende enzymatische Reaktionen) Komponenten in üblichen Verfahren zu neuen empfindlicheren zweischichtigen Biosensoren zusammen gebaut werden.

35

40

45

50

55

60

65

Erzielbare Vorteile und Erläuterung zur Ausgestaltung der Erfindung

1) Der neue Biosensor bietet ein prinzipiell offenes und gleichzeitig hochselektives Potential für Liganden, die der Biosensor erkennen kann. Ähnlich wie von anderen Syntheseverfahren bekannt (z. B. Amato, I 1992; Science, 5 330—331) werden zur Identifizierung von 2ⁿ Substanzen nur n Biosensoren der neuen Bauart benötigt. Das ist deshalb möglich, weil die einzelnen Herstellungsschritte Gemische sowohl bei der Bearbeitung zur Erzielung elektronischer Sensoreigenschaften, wie auch bei den beiden Bearbeitungsschritten zur Erzielung biologischer Sensoreigenschaften benutzen können. Kann ein Sensor durch entsprechende Behandlung im Herstellungsverfahren mit einer Substanz genau einen Stoff nachweisen, so sind damit beispielsweise für den Nachweis von acht

10 (2³) Substanzen genau drei Sensoren nötig:

Sensor a wurde gleichzeitig mit den Printmolekülen bzw. Substanzen 1, 2, 3, 4 behandelt, um die nachzuweisenden Stoffe 1', 2', 3' und 4' erkennen zu können [bitte beachten, daß eben nur durch das verwandte Herstellungsverfahren, alle Arbeitsgänge genau auf diese eine Schicht einwirken zu lassen, es möglich wird, das die selbe Schicht alle vier Substanzen spezifisch nachweisen kann, wobei insbesondere die Behandlungsverfahren für die 15 biologische Spezifität so ausgewählt wurden, daß durch die Behandlung mit einem Printmolekül (Hauptanspruch 1) bzw. einer Substanz (Hauptanspruch 2) eine Spezifität für einen bestimmten Stoff entsteht, und daß die Mutterschicht (meistens ein organisches Polymer) tatsächlich verschiedene Molecular Imprints (Hauptanspruch 1) bzw. Substanzen (Hauptanspruch 2) beherbergen kann und das das immer noch zur jeweils spezifischen Stofferkennung von der biologischen Seite her führt].

20 Sensor b hat eine Behandlung mit den Printmolekülen bzw. Substanzen 1, 2, 5, 6.

Sensor c hat eine Behandlung mit den Printmolekülen bzw. Substanzen 1, 3, 5, 7.

Dann bestimmt der umgekehrte Dualzahlcode des elektronischen Ausgangssignals der drei Biosensoren jeweils exakt, welche der nachzuweisenden Substanzen 1' bis 8' vorliegt (in diesem einfachen Anwendungsbeispiel wurde angenommen, das nur eine der acht Substanzen alleine vorliegt. Es können aber selbst Substanzgruppen durch eine genauere Auswertung des elektronischen Signals, insbesondere seiner Konzentrationsabhängigkeit, bestimmt werden, wobei dann allerdings manchmal mehr Sensoren nötig sind):

111 alle drei Sensoren sprechen an: Substanz 1' liegt vor.

110

30 101

100

011 nur Sensor zwei und drei sprechen an: Substanz 5'.

010

35 001 nur Sensor drei spricht an: Substanz 7' liegt vor.

000

2) Der biologische Verfahrensschritt des Imprinting macht aus diesem ursprünglich biologisch-chemischen Verfahren auch eine neue, die Dotierung unterstützende Technik. Dadurch können auch neue, anders nicht erreichbare (insbesondere Modulation der elektronischen Leitfähigkeit in Abhängigkeit von umgebenden Stoffkonzentrationen) elektronische Eigenschaften in der so behandelten Schicht erzielt werden.

3) Biologisch-analytische Nachweisverfahren werden so um eine Methode erweitert, die gleich ihre Bindung nachweist (nämlich durch den elektronischen Effekt im organischen Halbleiter). Dadurch werden Bindungsassays, Radioaktivität, markierter Ligand usw. überflüssig, die die biochemischen analytischen Nachweisverfahren, die üblicherweise Techniken des Molecular Imprinting verwenden, deutlich zeitaufwendiger und umständlicher machen. Daneben wird auch die Empfindlichkeit der biologischen Nachweisreaktion höher, da kein Signal über den zusätzlichen Bindungsassay verloren geht.

4) Eine weitere neue elektronische Anwendung der Erfindung sind die Steuerungen von Synthesen, denn nun können entsprechend der Spannung verschiedene Liganden abgestoßen bzw. freigesetzt werden. Ein Beispiel, 50 wären zwei Carboxygruppen, die rasch bei hoher negativer Gesamtladung (durch Aufbringen zusätzlicher elektrischer Ladungen auf die Sensoroberfläche, z. B. aus einem Kondensator) des Sensors von seiner Oberfläche freigesetzt werden können, umgekehrt würden Ammoniumgruppen durch starke positive Ladungen freisetzbare sein. Dadurch kann das neue kombinierte Bauteil auch bei der gesteuerten Synthese komplexer Verbindungen eingesetzt werden, z. B. bei Peptiden: Asp-Lys-...

55

Ausführungsbeispiel

Eine Realisierung des hier offenbarten Biosensors zeigt Fig. 1, andere Anordnungen sind ebenfalls möglich, sofern sie ein befriedigendes elektronisches Endsignal ergeben. Zwischen Source (S in Fig. 1) und Drain (D in 60 Fig. 1) eines Feldeffekttransistors (oder einem anderen geeigneten elektronischen Bauteil), in Fig. 1 sind die zugehörigen entsprechend dotierten Halbleiterschichten des verwandten Feldeffekttransistors mit n, p, und wieder n bezeichnet, entsteht das elektronische Signal. Direkt im Gatebereich (Fig. 1) befindet sich die kombinierte Nachweisschicht KN, Herzstück und kennzeichnender Teil der Erfindung (im Detail, Fig. 2, ist die Aufsicht der untersuchenden Lösung zugewandten Oberfläche dargestellt). Zwischen dem Gate und der Schicht KN können aus elektronischen und herstellungstechnischen Gründen weitere sehr dünne halbleitende oder auch isolierende Schichten liegen, im Ausführungsbeispiel ist es eine einzige, dünne, isolierende Schicht I. Im Ausführungsbeispiel sollen zunächst im ersten Herstellungsschritt für diese neue kombinierte Nachweisschicht KN organische Polymere (z. B. aus Methacrylsäure) als funktionelles Monomer in einem geeigneten

Lösungsmittel (z. B. Chloroform) zusammen mit einem cross-linking Monomer (z. B. Ethylen glycol dimethacrylat) vernetzt werden. Ein Printmolekül (Hauptanspruch 1) wird außerdem zugegeben. Das Printmolekül soll spezifisch nachgewiesen werden, ein weites Spektrum ist möglich: Verschiedenste Substanzen (z. B. Glucose), Agonisten (insbesondere pharmazeutische Substanzen, etwa Sympathomimetika, Tranquillizer etc.), Inhibitor, Farbstoffe, Ligand, Peptid, Nukleinbase; im Ausführungsbeispiel wurde Thymin gewählt (Fig. 3a, obere Hälfte). Die Reaktion wird durch einen geeigneten Katalysator (z. B. 2,2'-azobis(2-methylpropionitril)) gestartet, ein festes unlösliches Polymer bildet sich (typischer Weise innerhalb von 16—24 Stunden; UV Aktivierung kann unterstützend eingesetzt werden). Dabei bilden insbesondere die Carboxylgruppen des verwendeten Monomers ionische Interaktionen mit Aminogruppen und Wasserstoffbrücken mit polaren Gruppen des Printmoleküls. Das Printmolekül wird durch eine dafür geeignete Lösungsmittelextraktion wieder herausgewaschen (im Beispiel durch extensive Waschen mit Methanol/Essigsäure (9/1, v/v)). Das Resultat ist ein Imprint, wie im Detail in Fig. 3a (untere Hälfte) dargestellt, und auch in der Fig. 2 als wichtiger Bestandteil von der kombinierten Nachweisschicht KN zu sehen.

Eine Variante des Ausführungsbeispiels (Hauptanspruch 2) lagert durch einfache Zugabe in die Polymerisationslösung neben (oder, nicht dargestellt, anstatt) der Printsubstanz auch Substanzen (z. B. biologische Monomere, etwa Nukleinsäuren oder Oligonukleotide, aber auch andere biologische und chemische Verbindungen, die mit hoher Nachweisspezifität mit einer Substanz aus der Nachweisprobenlösung interagieren können) ein, um damit die Spezifität der biologischen Signalerkennung zu erhöhen (rechte Hälfte von Fig. 2, die eingelagerten Monomere sind mit * in der rechten Hälfte der Abbildung gekennzeichnet; ihre spätere Interaktion mit Molekülen, die aus der Probenlösung beim Meßvorgang nachgewiesen werden sollen, ist in Fig. 3b dargestellt). Damit kann die Substanz, die nachgewiesen werden soll, im Beispiel Thymin (entsprechendes gilt aber auch für interagierende Oligonukleotide) gleichzeitig durch die Interaktion mit dem eingelagerten Adenin und der Interaktion und Rezeptoranpassung mit der durch Imprinting hergestellten Kontaktoberfläche spezifischer nachgewiesen werden als durch eine der beiden Methoden alleine. Damit dabei aber auch gleichzeitig ein elektronisches Signal entsteht, ist der nächste Herstellungsschritt nötig.

Um die elektronischen Eigenschaften dieser vorbehandelten Schicht sicherzustellen, wären zahlreiche verschiedene Dotierungsverfahren denkbar (z. B. konventioneller, Dziewior, 1980, oder auch neuere, Yamazaki und Kurohawa, 1991). Das Entscheidende ist aber, daß durch die bereits vorliegende Wahl (organisches Polymer) und Vorbehandlung (Imprinting und/oder Einlagerung) eine Dotierung der kombinierten Nachweisschicht KN auf besonders einfache und schonende Weise dadurch erreicht werden kann: Das vorbehandelte Polymer wird in eine gesättigte Lösung von Jod (oder einem anderen geeigneten Ion; selbstverständlich können auch Gegendiffusionstechniken genutzt werden) in Tetrachlorkohlenstoff eingetaucht (eines Stunde ergibt meist befriedigende Resultate; zu lange Zeit führt zur Degradierung des Polymers, eine zu kurze Zeit ergibt nur eine schlechte Dotierung; die eingelagerten Ionen sind mit o in Fig. 2 gekennzeichnet). Man erhält auf diese einfache Weise nun verwertbare Halbleitereigenschaften, so daß nun das biologische Signal in der kombinierten Nachweisschicht zu einem elektronischen Signal führt. Der übrige Feldeffekttransistor und einschichtige Biosensor bzw. die weiteren Komponenten für einen mehrschichtige Biosensor werden entsprechend dem bereits bekannten Stand der Technik hergestellt.

Literaturstellen:

Patente
DE-OS 26 10 530
US 4 020 830
US 3 831 432
DE 35 13 168 C2

Basescu, N., Liu, Z.-X., Moses, D., Heeger, A. J., Naarmann, H. und Theophilou, N. (1987) High electrical conductivity in doped polyacetylene. *Nature* 327, 403—405.

Dempsey, E., O'Sullivan, C., Smyth, M. R., Egan, D., O'Kennedy, R. und Wang, J. (1993) Development of an antibody-based amperometric biosensor to study the reaction of 7-hydroxycoumarin with its specific antibody. *Analyst*. 118, 411—413.

Dziewior, J. (1980) Transport und Rekombinationsprozesse in hochdotierten Silizium. Dissertation, Universität Stuttgart.

Gustafsson, G., Cao, Y., Treacy, G. M., Klavetter, F., Colaneri, N. und Heeger, A. J. (1992) Flexible light-emitting diodes made from soluble conducting polymers. *Nature* 357, 477—479.

Kung, V. T., Panfili, P. R., Sheldon, E. L., King, R. S., Nagainis, P. A., Gomes, B., Ross, D. A., Briggs, J. und Zuk, R. F. (1990) Picogramm quantitation of total DNA using DNA-binding proteins in a silicon sensor based system. *Analytical Biochemistry* 187, 220—227.

Malmqvist, M. (1993) Biospecific interaction analysis using biosensor technology. *Nature* 361, 186—187.

Parente, A. H., Marques, E. T. jr., Azevedo, W. M., Diniz, F. B., Melo, E. H. und Lima-Filho, J. L. (1992) Glucose biosensor using glucose oxidase immobilized in polyanilin. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 37, 267—273.

Rank, M., Danielsson, B. und Gram, J. (1992) Implementation of a thermal biosensor in a process environment: on-line monitoring of penicillin V in production-scale fermentations. *Biosens. Bioelectron* 7, 631—635.

Roe, J. N. (1992) Biosensor development. *Pharm. Res.* 9, 835—844.

Simonian, A. L., Rainina, E. I., Lozinsky, V. I., Badalian, I. E., Khachatrian, G. E., Tatikian, S. S., Makhlis, T. A. und Varfolomeyev, S. D. (1992) A biosensor for L-proline determination by use of immobilized microbial cells. *App. Biochem. Biotechnol.* 36, 199—210.

Vlatakis, G., Andersson, L. I., Müller, R. und Mosbach, K. (1993) Drug assay using antibody mimics made by

molecular imprinting. Nature 361, 645—647.
Yamazaki, S. und Kurokawa, Y. (1991) Polym. Commun. 32, 524—527.

Patentansprüche

- 5 1. Hauptanspruch
Biosensor zur Umwandlung eines biochemischen in ein elektronisches Signal, dadurch gekennzeichnet,
daß die biologische Spezifität durch Molecular Imprinting von Polymeren erreicht wird.
10 1.1. Unteranspruch: Biosensor nach Anspruch 1,
insbesondere dadurch gekennzeichnet, daß die Halbleitereigenschaften für die elektronischen Schalteigen-
schaften des Biosensors durch ein geeignetes organisches Polymer erreicht werden.
1.2. Unteranspruch: Biosensor nach Anspruch 1,
insbesondere dadurch gekennzeichnet, daß das Molecular Imprinting an organischen Polymeren durchge-
führt wird.
15 1.3. Unteranspruch: Biosensor nach Anspruch 1,
insbesondere dadurch gekennzeichnet, daß durch das Molecular Imprinting eines organischen Halbleiters
ein einschichtiger Biosensor entsteht.
2. Hauptanspruch
Biosensor zur Umwandlung eines biochemischen in ein elektronisches Signal, dadurch gekennzeichnet, daß
20 die biologische Spezifität dadurch erreicht wird, das ein organischer Halbleiter verwendet wird und schon
bei seiner Herstellung direkt organische Moleküle eingelagert werden, die spezifisch die Substanz, die
nachgewiesen werden soll, erkennen.
2.1. Unteranspruch: Biosensor nach Anspruch 2,
insbesondere dadurch gekennzeichnet, daß organische Monomere komplexer Verbindungen eingelagert
25 werden.

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

30

35

40

45

50

55

60

65

- Leerseite -

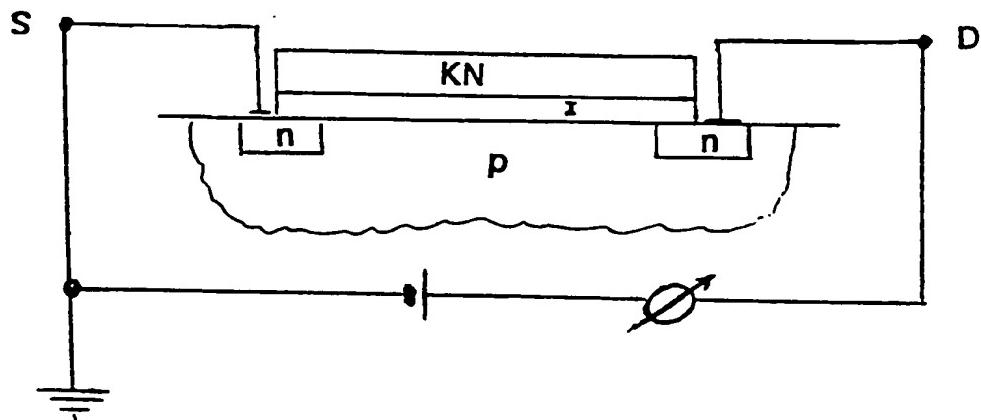


Fig. 1

Fig. 2

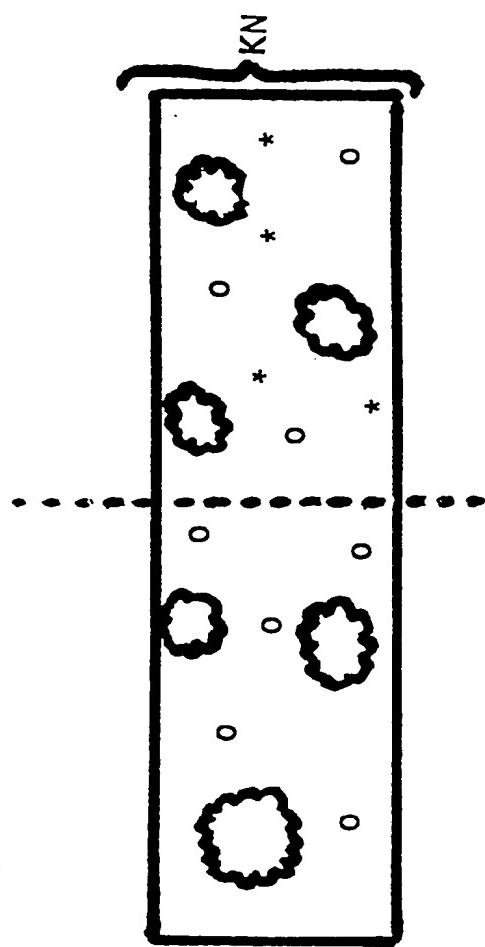
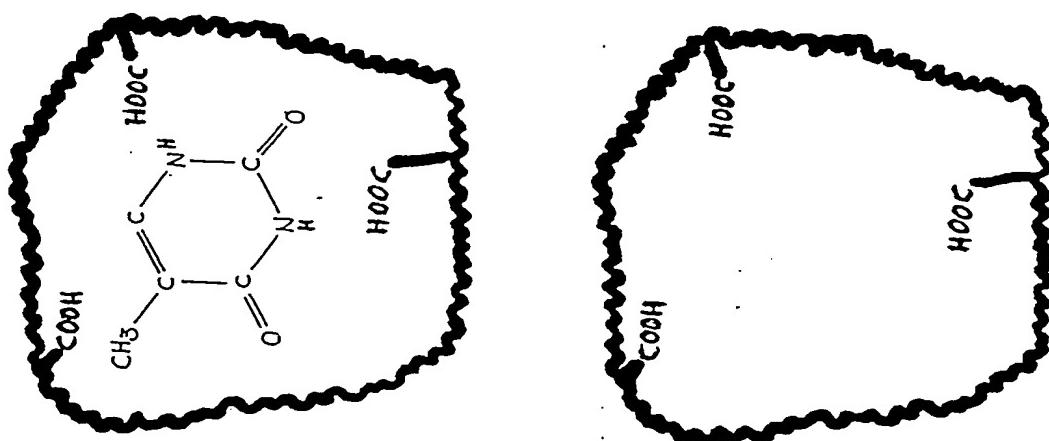
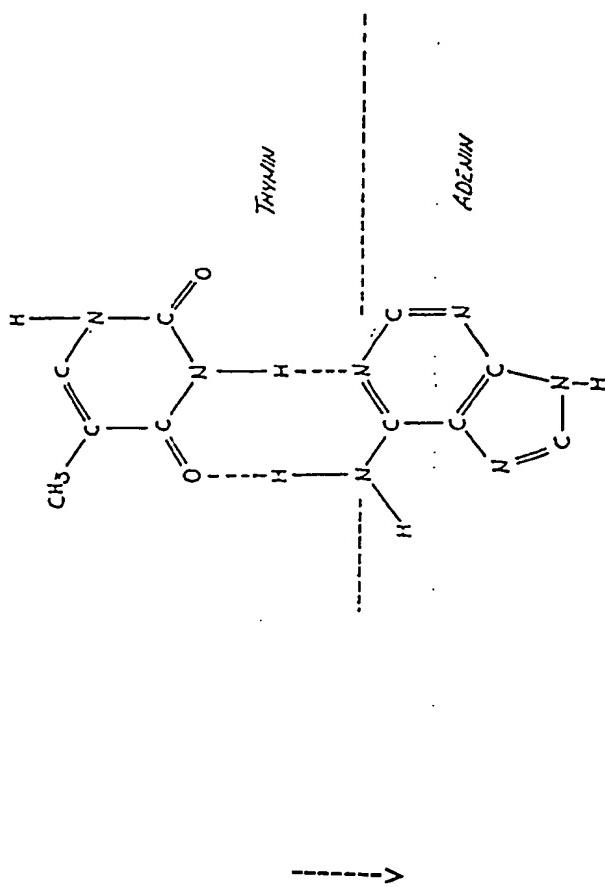


Fig. 3b
Fig. 3a



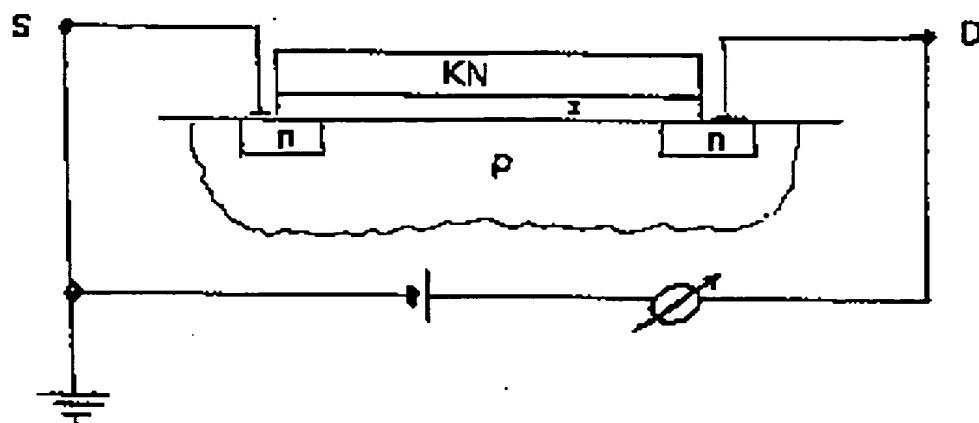


Fig. 1

FIG. 2

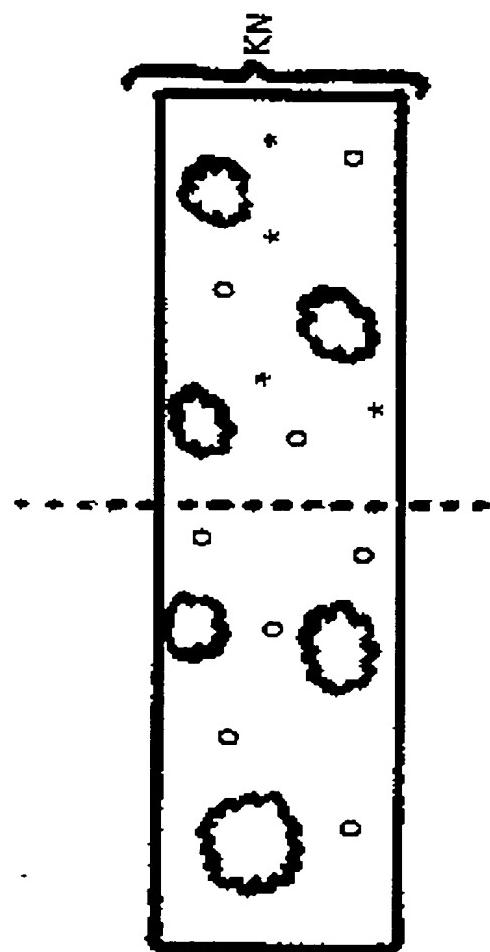


Fig. 3b

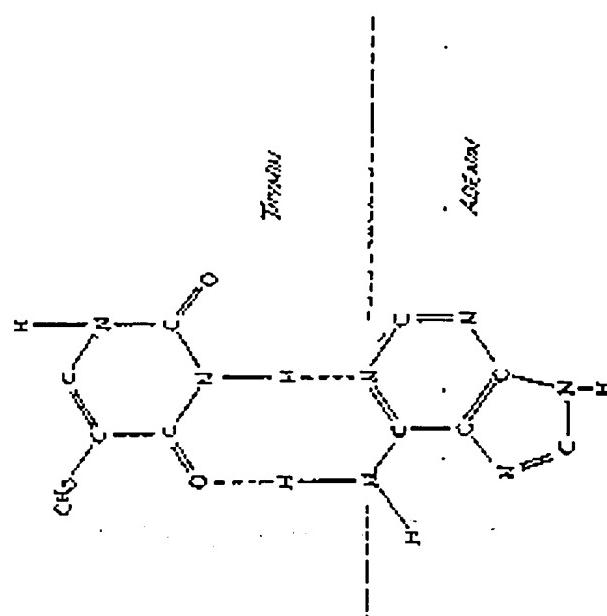
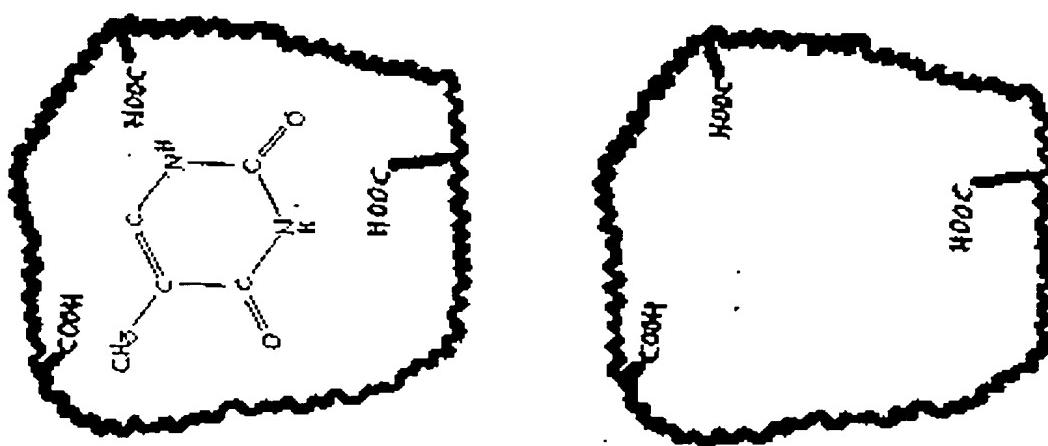


Fig. 3a



THIS PAGE BLANK (USPTO)